# 饲粮营养水平对绒山羊小肠感应因子 mRNA 相对表达量、血液理化指标及激素含量的影响

张　霞[1,2]　孙海洲[2*]　桑　丹[2]　赵存发[2]　李胜利[2]　艳　城[2]　凌树礼[2]　珊　丹[2]　任晓萍[2]

(1.内蒙古富源牧业有限责任公司，呼和浩特　010070；2.内蒙古农牧业科学院，动物营养与饲料研究所，呼和浩特　010031)

摘　要：本试验旨在适当降低饲粮氮水平条件下，通过饲粮添加 N-氨甲酰谷氨酸（NCG）及小肠灌注葡萄糖，研究其对绒山羊小肠感应因子 mRNA 相对表达量、血液理化指标及激素含量的影响。选用 27 只体况良好、装有永久性瘤胃和十二指肠瘘管的内蒙古白绒山羊羯羊，按年龄和体重相近原则随机分成 9 组，每组 3 只。饲粮分为 3 个处理：低氮[粗蛋白质(CP)10.5%]、低氮+NCG（0.20 g/d）和高氮（CP 13.5%）；每个处理的山羊分别进行 3 个水平的十二指肠葡萄糖灌注：0、20 和 40 g/d。饲养试验（15 d 预试期、15 d 正试期）结束后，屠宰取空肠和十二指肠组织，通过实时定量 PCR 法测定营养感应因子 mRNA 相对表达量，测定血液理化指标、血清和空肠相关激素含量。结果表明：1）在基础饲粮条件（无葡萄糖灌注）下，随着饲粮氮水平的下降，空肠和十二指肠钠-葡萄糖共转运载体 1（*SGLT*1）的 mRNA 相对表达量，血浆尿素氮、葡萄糖含量，血清瓜氨酸、胰岛素含量，血清和空肠胰高血糖素样肽 1（GLP-1）、胰高血糖素样肽 2（GLP-2）和促胰岛素肽（GIP）含量减少，而空肠和十二指肠溶质载体家族 7 成员 9（*SLC7A*9）、溶质载体家族 7 成员 1（*SLC7A*1）的 mRNA 相对表达量增加。2）增加适宜过瘤胃葡萄糖后，随着饲粮氮水平的下降，*SGLT*1、味觉受体 1 型 1、味觉受体 1 型 2、味觉受体 1 型 3 mRNA 相对表达量呈增加趋势。3）低氮饲粮条件下灌注 20 g/d 葡萄糖,额外饲喂 NCG 能够缓解饲粮氮水平降低引起的空肠和十二指肠 *SGLT*1 mRNA 相对表达量，血浆尿素氮、葡萄糖含量，血清瓜氨酸含量，血清和空肠 GLP-1、GLP-2 和 GIP 含量的下降。结果提示，适当降低饲粮氮水平，补饲 NCG 和增加过瘤胃葡萄糖（十二指肠灌注 20 g/d）对绒山羊机体代谢及肠道营养物质感应均有促进作用。

---

收稿日期：2016-01-02

基金项目：国家公益性行业（农业）科研专项（201303059）；国家公益性行业（农业）科研专项（201303062）；国家绒毛用羊产业技术体系建设（CARS-40-12）；内蒙古农牧业科技创新基金项目（2013CXJJM05）

作者简介：张　霞（1988-），女，内蒙古呼和浩特人，硕士研究生，动物营养与饲料科学专业。E-mail：　zhangxia19880818@163.com

*通信作者：孙海洲，研究员，硕士生导师，E-mail：　sunhaizhou@china.com

关键字：山羊；肠道营养感应因子；葡萄糖；N-氨甲酰谷氨酸

中图分类号：S826

肠道的耗氧量占整个机体的 25%，是动物消化食物、吸收营养的主要场所；是一个可以调节控制胃肠道功能的独立整合系统，故有“第二大脑”之称。同时，肠道也被作为化学传感接口，负责将胃肠道管腔环境生成的信息传递到大脑和身体的其余各个部分[1]。早在 1964 年，Mcintyre 等[2]发现口服葡萄糖比静脉注射更能有效地提高血浆胰岛素（INS）含量，从而证实胃肠道在感应和传导营养信号中起到积极作用。Lam 等[3]提出了“胃肠化学感应”，指出其直接研究的意义是提高动物采食量，增强动物体内营养物质的消化与吸收，提高肠道的屏障功能，促进肠道健康，从而综合提高家畜生产力[4]。

饲粮中碳水化合物在小肠主要是以葡萄糖的形式吸收并利用。葡萄糖从小肠运送到血液主要是通过 2 条途径：主动运输和易化扩散[5]。主动运输的途径是指位于肠上皮细胞刷状缘膜上的钠-葡萄糖共转运载体 1（SGLT1）通过位于基底外侧的钠/钾-ATP 酶（$Na^+/K^+$-ATPase）所维持的电化学梯度，偶联葡萄糖或半乳糖和水，将 2 分子的钠从细胞腔内转运到血液中[6]。异化扩散途径是位于顶膜和基底外侧膜的一种对葡萄糖具有低亲和力的葡萄糖协助扩散转运载体 2（GLUT2）来完成的[7]。

此外，存在于口腔中的味觉感应器于 2002 年在肠道中发现并首次报道[8]。味觉感应器是 G 蛋白偶联受体（GPCR）的 2 个类型，即味觉受体 1 型（T1R）和味觉受体 2 型（T2R）[9-10]。甜味感应器是由 T1R 家族中的 2 个成员 T1R2 和 T1R3 以异源二聚体的形式组成，主要用于检测肠道中单糖（如葡萄糖、半乳糖和果糖）[11]。而 T1R1 和 T1R3 以异源二聚体的形式用于感应鲜味（咸味），由于此二聚体形式可识别谷氨酸产生的“鲜味”，故可用于识别肠道中可利用的 *L*-氨基酸[12]。T2R 家族是苦味感应家族，至少由 30 个 GPCR 成员组成。甜味、鲜味和苦味感受器是通过 GPCR 的 α-味导素（α-gustducin）来联系，并在 A、K 和 L 细胞中进行表达[9-10]，通过分泌相关激素[胰高血糖素样肽 1（GLP-1）、胰高血糖素样肽 2（GLP-2）、胆囊收缩素（CCK）等]促进营养物质的吸收。

目前，低氮养殖理念已逐步深入到畜禽养殖中，但由于反刍动物较复杂的生理结构，使其在该领域相关研究进展相对较慢。而在碳水化合物对饲粮的调控技术研究和功能性氨基酸研究的层次从单一化到多方位的提升的过程中，关于饲粮中蛋白质（氨基酸）和葡萄糖互作

对机体代谢的影响的基础性研究显得尤为重要。为此，本试验通过测定不同氮及葡萄糖水平且添加 N-氨甲酰谷氨酸（NCG）的饲粮对绒山羊血液理化指标及相关激素含量的影响，并通过实时定量 PCR 就绒山羊小肠中营养物质感应因子 mRNA 相对表达量进行测定。旨在研究低氮水平下添加 NCG 并灌注适量的葡萄糖对绒山羊小肠葡萄糖吸收的影响，从而合理配制饲粮，减少资源浪费，降低饲粮成本。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验动物及饲粮

#### 1.1.1 试验设计

选用 27 只体况良好，体重为(50.07±5.97) kg 有永久性瘤胃瘘管和十二指肠瘘管的内蒙古白绒山羊半同胞羯羊，按年龄和体重相近的原则随机分为 9 组，每组 3 只。饲粮分为 3 个处理：低氮[粗蛋白质(CP)10.5%]、低氮+NCG（0.20 g/d[13-14]）和高氮（CP 13.5%），分别计作 LN、LN+NCG、HN；每个处理的山羊分别进行 3 个水平的十二指肠葡萄糖灌注：0、20 和 40 g/d，分别计作 0 g/d G、20 g/d G 和 40 g/d G。试验操作流程参考本团队前期的研究论文[15-18]。

试验饲粮配制参照 NRC（2007）[19]，其组成及其营养水平见表 1。NCG 购自北京优尼康生物科技有限公司，并由北京菲迪饲料科技有限责任公司进行过瘤胃包被处理（过瘤胃保护率≥92%）。

表 1 试验饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of experimental diets (air-dry basis)

| 项目 Items | 饲粮 Diets | | |
|---|---|---|---|
| | 低氮 LN | 低氮+NCG | 高氮组 |
| 原料 Ingredients/% | | | |
| 羊草 Chinese wildrye | 50.30 | 50.30 | 40.00 |
| 苜蓿 Alfalfa | 9.70 | 9.70 | 20.00 |
| 豆粕 Soybean meal | 5.40 | 5.40 | 9.90 |
| 玉米 Corn | 20.60 | 20.60 | 10.10 |
| 麸皮 Wheat bran | 12.50 | 12.50 | 18.50 |
| 预混料 Premix[1)] | 1.50 | 1.50 | 1.50 |
| 合计 Total | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| 营养水平 Nutrient levels[2)] | | | |
| 代谢能 ME/（MJ/kg） | 10.69 | 10.69 | 10.67 |
| 干物质 DM/% | 92.59 | 92.59 | 91.85 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 粗蛋白质 CP/% | 10.53 | 10.54 | 13.50 |
| 钙 Ca/% | 0.80 | 0.80 | 0.88 |
| 磷 P/% | 0.32 | 0.32 | 0.37 |
| 中性洗涤纤维 NDF/% | 58.60 | 58.60 | 57.20 |
| 非结构性碳水化合物 NFC/% | 48.60 | 48.60 | 45.30 |
| 非结构性碳水化合物:中性洗涤纤维 NFC:NDF | 0.83 | 0.83 | 0.79 |

1) 每千克预混料含有 One kilogram of premix contains the following：Fe（$FeSO_4·7H_2O$）170 g，Cu（$CuSO_4·5H_2O$）70 g，Mn（$MnSO_4·5H_2O$）290 g，Zn（$ZnSO_4·7H_2O$）240 g，Co（$CoCl_2·6H_2O$）510 mg，KI 200 mg，$NaSeO_3$ 130mg，VA 620 000 IU，$VD_3$ 324 000 IU，VE 540 IU，$VK_3$ 150 mg，$VB_{12}$ 0.9 mg，$VB_5$ 450 mg，泛酸钙 calcium pantothenate 750 mg，叶酸 folic acid 15 mg。

2) 营养水平均为计算值，方法参考英国 AFRC（1993）及美国 Feedstuff 饲料成分分析表（2007 版）[20-21]；非结构性碳水化合物=1-中性洗涤纤维-粗蛋白质-粗脂肪-粗灰分。Nutrient levels were measured in reference to AFRC（1993, British） and *Feedstuffs Ingredient Analysis Table* in *Feedstuff*，2007 ed. (USA); NFC=1-NDF-CP-EE-ash.

### 1.1.2 饲养管理

将称重后的试验羊只放入饲养笼中单独饲养，于每日在 07:00 和 16:00 先粗后精等量饲喂 2 次，自由饮水。准确记录每日试验羊只的采食量和剩料量，试验预试期和正试期均为 15 d。

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 血清、血浆样品采集

连续采集正试期的第 8～10 天试验羊只血样，每天 08：00 由颈静脉采血 20 mL，其中 10 mL 缓慢注入涂有肝素(750 IU)的离心试管(始终置于冰盒)中，在 30 min 内，于 4 ℃ 2 000×*g* 条件下离心 15 min 分离血浆样本，制备样品置于-25 ℃保存，待测血浆葡萄糖、尿素氮含量。另采取的 10 mL 血液于试管中，在离心力为 4 500×*g* 的离心机离心 10 min，制备血清样品，吸取血清至离心管中，加盖冷藏(-20 ℃保存),待测血清 GLP-1、GLP-2、葡萄糖依赖性胰岛素释放肽（GIP）和 CCK、胰岛素和瓜氨酸（citrulline）的含量。结果为 3 d 平均值。

### 1.2.2 测定肠道组织激素时的样品采集

饲养试验结束后，每个试验组选取具有代表性的 1 只羊进行屠宰，取近空肠中段约 10 cm，用温生理盐水冲洗干净后，迅速将空肠分为长度约 2 cm 的肠段放入冻存管中，存于-80 ℃冰箱，，测定相关激素含量时，取空肠组织样品，制成组织匀浆，测定 GLP-1、GLP-2、GIP、CCK 含量。。

1.2.3　实时定量 PCR 样品采集

按照实时定量 PCR 样品测定时样品采集的方法，切开腹腔取出全部小肠,剪开肠系膜,将部分十二指肠、空肠前段剖开肠管，之后并用温生理盐水冲洗干净,迅速分装后放于液氮保存，以备测定。之后分别测定不同组别羊只空肠和十二指肠中碱性氨基酸转运载体[溶质载体家族 7 成员 9（*SLC7A9*）、溶质载体家族 7 成员 1(*SLC7A1*)]、小肠葡萄糖转运载体（*SGLT1*、*GLUT2*）及营养感应因子（*T1R1*、*T1R2*、*T1R3*）的 mRNA 的相对表达量。

1.3　样品分析

1.3.2　血浆葡萄糖含量

血浆葡萄糖含量使用全自动生化分析仪（美国贝克曼-库尔特公司）进行测定。

1.3.3　血清胰岛素和瓜氨酸，血清和空肠 GLP-1、GLP-2、GIP、CCK 含量

血清中 GLP-1、GLP-2、GIP、CCK、胰岛素测定采用 ELISA 法测定，试剂盒由北京鑫方程生物技术有限公司提供。空肠组织样品中 GLP-1、GLP-2、GIP、CCK 测定，需要将空肠组织样品职称组织匀浆后，按照测定血清中该指标方法进行。血清中瓜氨酸的含量亦采用 ELISA 法测定，试剂盒由江莱化学科技（上海）有限公司提供。

1.4　试验仪器及试剂

酶标仪（芬兰，Labsystems Multiskan MS，352）；洗板机（芬兰，Thermo Labsystems，AC8）；离心机（微量高速离心机，TG16W）；培养箱（隔水式恒温培养箱，GNP-9080）；高速冷冻离心机（德国，Eppendorf，5417）；微量紫外分光光度计（北京五洲东方科技发展有限公司，Biodropsis）；低温离心机（德国，Eppendorf，5810）；PCR 仪（美国，Illumina Eco）；凝胶成像系统；实时定量 PCR 仪（美国，ABI，MP3005）；超低温冰箱（美国，Thermo Forma）。

反转录 RCR、实时定量 PCR 试剂盒、Ex-Taq 预混 Mix 均由日本 TaKaRa 公司生产；未特殊说明的试剂均为分析纯。

1.5　引物设计

根据 GenBank 中公布的 *SLC7A9*（XM_005692243.1）、*SLC7A1*（XM_005687542.1）、*SGLT1*（NM_001009404.1）、*GLUT2*（XM_004003162.1）以及内参基因甘油醛-3-磷酸脱氢酶（*GAPDH*）的 mRNA 序列均由宝生物工程（大连）有限公司设计并合成，营养感应因子 *T1R1*(XM_005690745.1)、*T1R2*(Gene ID:102171940)、*T1R3*(XM_005690861.1)利用 Primer 5.0

设计特异性引物，由生工生物工程（上海）股份有限公司合成。引物信息见表 2。

表 2 引物信息

Table 2 Primer information

| 基因 Genes | 引物名称 Primer name | 序列 Sequences（5′-3′） | 退火温度 Annealing temperature/℃ | 产物长度 Product length/bp |
|---|---|---|---|---|
| 溶质载体家族 7 成员 1 *SLC7A1* | SLC7A1-F<br>SLC7A1-R | ACAGGGGAGGAGGTGAAGAAC<br>AAATAGGCGATGAAGCAGATGAG | 61.00 | 83 |
| 溶质载体家族 7 成员 9 *SLC7A9* | SLC7A9-F<br>SLC7A9-R | TGGCACCTGCATCATCGT<br>TCGCAAGAACCCCACACA | 62.38 | 128 |
| 钠-葡萄糖共转运载体 1 *SGLT1* | SGLT1-F<br>SGLT1-R | CTTTGCCATCATCCTCTTTGTC<br>ATCTTGAATGTCCTCGTCTTCTG | 58.20 | 163 |
| 葡萄糖协助扩散转运载体 2 *GLUT2* | GLUT2-F<br>GLUT2-R | CCAATGTCTGCTGCTCTTCTTCT<br>GCTTCTTCCCTCTCTTTTCTCATCT | 62.28 | 156 |
| 味觉受体 1 型 1 *T1R1* | T1R1-F<br>T1R1-R | ATGCTGGCTGTTACCTACAAT<br>CAGGACACGAAGTTGAGGAG | 56.10 | 134 |
| 味觉受体 1 型 2 *T1R2* | T1R2-F<br>T1R2-R | CAGGAGGACTACAGCCACTAT<br>GGAAGGAGGAGGAGGGAGAG | 60.00 | 107 |
| 味觉受体 1 型 3 *T1R3* | T1R3-F<br>T1R3-R | GGGCTCCGTGAATCCTACACT<br>ACCTCCCAACATCCCACTCTT | 62.66 | 149 |
| 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 *GAPDH* | GAPDH-F<br>GAPDH-R | GGAGCACGAGAGGAAGAGAGAG<br>CCTTGGGGATGGAAATGTGT | 62.08 | 102 |

### 1.6 样品总 RNA 提取和 cDNA 合成

采用 Trizol 法提取空肠和回肠的总 RNA，经紫外分光光度计测得 A260/A280 值在 1.8～2.0 之间，琼脂糖凝胶电泳法评价总 RNA 的质量。参照 PrimeScript RT Master Mix 反转录试剂盒说明书的操作步骤将样品总 RNA 都以相同浓度进行反转录，反应体系总体积为 25 μL：5×PrimeScript Buffer 5 μL，PrimeScript™ RT Enzyme Mix 1.25 μL，Oligo dT Primer 1.25 μL，Random Primer 1.25 μL，总 RNA 2.5 μL， RNase-free water 13.75 μL。反应条件设置为 37 ℃ 15 min，85 ℃ 5 s。

### 1.7 实时定量 PCR

参照 TaKaRa 试剂盒说明书，采用反应采用两步法，其条件为：95 ℃预变性 30 s；95 ℃变性 5 s，60 ℃退火 30 s，共 40 个循环。获取各个基因每个样品的阈值循环（Ct），每个基因样品做 3 个重复。以 *GAPDH* 基因作为内参，实时定量 PCR 获取各基因达到荧光阈值所对应的阈值循环（Ct），采用 $2^{-\triangle\triangle Ct}$ 法计算出目的基因 mRNA 相对表达量。

### 1.8 数据处理与分析

数据处理采用 SAS 9.0 软件的 ANOVA 进行单因素方差分析，用 Duncan 氏法进行多重比较。试验结果均以平均值±标准差表示，以 $P$<0.05 作为差异显著判断标准，以 $P$<0.01 作为差异极显著判断标准。

## 2　结果与分析

### 2.1　空肠和十二指肠基因相对表达量

由表 3 可知，基础饲粮条件（0 g/d G）下，葡萄糖转运载体 mRNA 相对表达量呈现的规律如下：1 组和 4 组山羊空肠中 *SGLT*1 的 mRNA 相对表达量显著低于 7 组（*P*<0.05），而这 2 组间差异不显著（*P*>0.05）；而就 *GLUT*2 的 mRNA 相对表达量而言，空肠中 4 组显著高于 7 组和 1 组（*P*<0.05），而后 2 组间差异不显著（*P*>0.05）。而相比之下，碱性氨基酸转运载体 mRNA 相对表达量的规律性更为明显，1 组和 4 组的 *SLC7A*1 和 *SLC7A*9 mRNA 相对表达量均显著高于 7 组（*P*<0.05）。1 组和 4 组空肠中营养感应因子 *T*1*R*1 和 *T*1*R*3 mRNA 相对表达量显著高于 7 组（*P*<0.05），各组间空肠中 *T*1*R*2 mRNA 相对表达量无显著差异（*P*>0.05）。

基础饲粮条件下，山羊过瘤胃葡萄糖增加 20 g/d（20 g/d G）时，2 组和 5 组空肠中葡萄糖转运载体 *SGLT*1 和 *GLUT*2 的 mRNA 相对表达量均显著高于 8 组（*P*<0.05）。就碱性氨基酸转运载体而言，2 组和 5 组空肠中的 *SLC7A*9 mRNA 相对表达量显著高于 8 组（*P*<0.05）；5 组空肠中 *SLC7A*1 mRNA 相对表达量显著高于 2 组和 8 组（*P*<0.05），且后 2 组间差异不显著（*P*>0.05）。空肠中各营养感应因子 mRNA 相对表达量没有呈现一致的规律性。

基础饲粮条件下，山羊过瘤胃葡萄糖增加 40 g/d（40 g/d G）时，3 组和 6 组空肠中葡萄糖转运载体 *SGLT*1 的 mRNA 相对表达量显著高于 9 组（*P*<0.05）；而 3 组和 6 组中的 GLUT2 却显著低于 9 组（*P*<0.05）。而 3 组、6 组氨基酸转运载体 mRNA 相对表达量都显著高于 9 组（*P*<0.05）。对于空肠中营养感应因子 mRNA 相对表达量，3 组和 6 组中 *T*1*R*1 和 *T*1*R*3 mRNA 相对表达量显著高于 9 组（*P*<0.05）；而各组间空肠中 *T*1*R*2 mRNA 相对表达量与 *T*1*R*1 和 *T*1*R*3 变化规律不一致。

表 3　饲粮营养水平对山羊空肠各基因 mRNA 相对表达量的影响

Table 3　Effects of dietary nutrient level on mRNA relative expression levels of genes in jejunum of goats

| 组别 Groups | 处理 Treatments | 钠-葡萄糖共转运载体 1 *SGLT*1 | 葡萄糖协助扩散转运载体 2 *GLUT*2 | 溶质载体家族 7 成员 1 *SLC7A*1 | 溶质载体家族 7 成员 9 *SLC7A*9 | 味觉受体 1 型 1 *T*1*R*1 | 味觉受体 1 型 2 *T*1*R*2 | 味觉受体 1 型 3 *T*1*R*3 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | LN+0 g/d G | 0.31±0.02$^{b}$ | 1.03±0.16$^{b}$ | 4.00±0.26$^{b}$ | 3.91±0.21$^{b}$ | 1.34±0.13$^{b}$ | 0.99±0.04 | 7.42±0.10$^{b}$ |
| 4 | LN+NCG+0 g/d G | 0.54±0.09$^{b}$ | 1.26±0.10$^{a}$ | 5.56±0.83$^{a}$ | 18.2±0.95$^{a}$ | 7.34±0.22$^{a}$ | 1.03±0.08 | 8.44±0.24$^{a}$ |
| 7 | HN+0 g/d G | 1.00±0.05$^{a}$ | 1.00±0.08$^{b}$ | 1.00±0.10$^{c}$ | 1.00±0.06$^{c}$ | 1.00±0.03$^{c}$ | 1.00±0.05 | 1.00±0.07$^{c}$ |
| 2 | LN+20 g/d G | 4.51±0.16$^{a}$ | 1.86±0.80$^{a}$ | 0.94±0.09$^{a}$ | 1.35±0.62$^{b}$ | 0.73±0.35$^{b}$ | 0.92±0.01 | 0.32±0.05$^{c}$ |
| 5 | LN+NCG+20 g/d G | 2.82±0.03$^{b}$ | 1.29±0.61$^{b}$ | 1.44±0.03$^{b}$ | 2.15±0.34$^{c}$ | 0.31±0.05$^{c}$ | 1.08±1.01 | 1.12±0.03$^{a}$ |

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 8 | HN+20 g/d G | 1.00±0.03[c] | 1.00±0.07[c] | 1.00±0.06[a] | 1.00±0.08[c] | 1.00±0.11[a] | 1.00±0.09 | 1.00±0.08[b] |
| 3 | LN+40 g/d G | 4.38±0.30[a] | 0.43±0.06[b] | 1.63±0.11[a] | 1.60±0.18[b] | 2.28±0.18[a] | 1.24±0.13[a] | 1.35±0.05[a] |
| 6 | LN+NCG+40 g/d G | 2.71±0.14[b] | 0.30±0.04[c] | 1.31±0.16[b] | 2.41±0.22[a] | 1.46±0.06[b] | 0.51±0.09[c] | 1.27±0.07[a] |
| 9 | HN+40 g/d G | 1.00±0.02[c] | 1.00±0.09[a] | 1.00±0.06[c] | 1.00±0.05[c] | 1.00±0.04[c] | 1.00±0.07[b] | 1.00±0.08[b] |

相同葡萄糖水平、同列数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著($P$＞0.05)，不同小写字母表示差异显著($P$＜0.05)，不同大写字母表示差异极显著($P$＞0.01)。表 4 同。

In the same column, a comparison was made between different level of G perfusion. Values with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference ($P$＞0.05), while with different small letter superscripts mean significant difference ($P$＜0.05), and with different capital letter superscripts mean significant difference ($P$ ＞0.01). The same as Table 4.

由表 4 可知，基础饲粮条件下，1 组和 4 组中山羊十二指肠中葡萄糖转运载体 *SGLT*1 mRNA 相对表达量总体呈现显著低于 7 组（$P<0.05$），而这 2 组间差异不显著（$P>0.05$）；而就 *GLUT*2 mRNA 相对表达量而言，十二指肠中 1 组显著高于 4 组和 7 组（$P<0.05$）。十二指肠中碱性氨基酸转运载体及营养感应因子 mRNA 相对表达量呈现一致的规律性，即：1 组和 4 组高于 7 组。

基础饲粮条件下，山羊过瘤胃葡萄糖增加 20 g/d 时，十二指肠中 2 组和 5 组葡萄糖转运载体 *SGLT*1 的 mRNA 相对表达量显著高于 8 组（$P<0.05$）；GLUT2 结果却相反，8 组高于 2 组和 5 组。碱性氨基酸转运载体及营养感应因子 mRNA 在十二指肠中相对表达量的结果呈现一致性，即：5 组显著高于 2 组和 8 组（$P<0.05$）。

基础饲粮条件下，山羊过瘤胃葡萄糖增加 40 g/d 时，3 组十二指肠中葡萄糖转运载体 *GLUT*2 mRNA 相对表达量显著低于 9 组（$P<0.05$）。氨基酸转运载体 3 组、6 组、9 组间无显著差异（$P>0.05$）。营养感应因子 *T*1*R*1、*T*1*R*2、*T*1*R*3 mRNA 相对表达量 6 组显著高于 3 组、9 组（$P<0.05$）。

表 4　饲粮营养水平对山羊十二指肠各基因 mRNA 相对表达量的影响

Table 4　Effects of dietary nutrient level on mRNA relative expression levels of genes in jejunum of goats

| 组别 Groups | 处理 Treatments | 钠-葡萄糖共转运载体 1 *SGLT*1 | 葡萄糖协助扩散转运载体 2 *GLUT*2 | 溶质载体家族 7 成员 1 *SLC7A*1 | 溶质载体家族 7 成员 9 *SLC7A*9 | 味觉受体 1 型 1 *T*1*R*1 | 味觉受体 1 型 2 *T*1*R*2 | 味觉受体 1 型 3 *T*1*R*3 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | LN+0 g/d G | 0.49±0.37[b] | 1.29±0.14[a] | 3.95±0.08[a] | 2.33±0.19[a] | 11.36±0.36[b] | 1.49±0.10[b] | 1.21±0.12[ab] |
| 4 | LN+NCG+0 g/d G | 0.45±0.90[b] | 0.72±0.12[b] | 1.23±0.97[b] | 1.20±0.05[b] | 18.00±0.63[a] | 8.10±0.15[a] | 1.27±0.22[a] |
| 7 | HN+0 g/d G | 1.00±0.04[a] | 1.00±0.07[c] | 1.00±0.09[c] | 1.00±0.03[b] | 1.00±0.08[c] | 1.00±0.06[c] | 1.00±0.04[b] |

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 | LN+20 g/d G | 1.24±0.09$^{a}$ | 0.89±0.09$^{a}$ | 0.97±0.06$^{b}$ | 0.07±0.05$^{c}$ | 0.75±0.05$^{c}$ | 2.18±0.09$^{b}$ | 0.66±0.10$^{c}$ |
| 5 | LN+NCG+20 g/d G | 1.28±0.06$^{a}$ | 0.70±0.08$^{b}$ | 5.38±0.12$^{a}$ | 6.13±0.79$^{a}$ | 2.20±0.13$^{a}$ | 5.79±0.11$^{a}$ | 4.66±0.18$^{a}$ |
| 8 | HN+20 g/d G | 1.00±0.05$^{b}$ | 1.00±0.03$^{a}$ | 1.00±0.06$^{b}$ | 1.00±0.09$^{b}$ | 1.00±0.09$^{b}$ | 1.00±0.07$^{c}$ | 1.00±0.04$^{b}$ |
| 3 | LN+40 g/d G | 0.67±0.14 | 0.82±0.11$^{b}$ | 0.99±0.14 | 0.94±0.05 | 1.03±0.14$^{b}$ | 0.87±0.10$^{c}$ | 0.61±0.06$^{c}$ |
| 6 | LN+NCG+40 g/d G | 0.88±0.08 | 0.95±0.04$^{ab}$ | 1.22±0.11 | 0.84±0.15 | 3.42±0.27$^{a}$ | 1.29±0.04$^{a}$ | 1.19±0.07$^{a}$ |
| 9 | HN+40 g/d G | 1.00±0.05 | 1.00±0.06$^{a}$ | 1.00±0.09 | 1.00±0.01 | 1.00±0.12$^{b}$ | 1.00±0.08$^{b}$ | 1.00±0.04$^{b}$ |

## 2.2 血液理化指标

由表 5 可知，基础饲粮条件下，4 组的血浆尿素氮含量显著低于 1 组和 7 组（$P$<0.05），后 2 组间差异不显著（$P$>0.05)；1 组和 4 组血清瓜氨酸含量都有低于 7 组的趋势，组间差异不显著（$P$>0.05)；而 4 组和 7 组血浆葡萄糖含量呈现高于 1 组的趋势，组间差异不显著（$P$>0.05)；且 4 组和 7 组血清胰岛素含量显高于 1 组($P$<0.05)。

而 1 组和 4 组间相比而言，4 组中血浆葡萄糖、血清胰岛素含量较 1 组高，说明低氮水平饲喂条件下添加 NCG 后能促进糖异生作用加强，这可能是由于 NCG 的添加促进了精氨酸族氨基酸的合成，从而使血浆葡萄糖和胰岛素都有所上调。

基础饲粮条件下，山羊过瘤胃葡萄糖增加 20 或 40 g/d 时，2 组、3 组、5 组和 6 组血浆葡萄糖和血清胰岛素含量都高于 1 组和 4 组，可能是由于外源葡萄糖灌注提高了血浆葡萄糖含量，进而导致血清胰岛素含量也随之升高。

表 5　饲粮营养水平对山羊血液理化指标的影响

Table 5　Effects of dietary nutrient level on blood physiochemical indexes of goats

| 组别 Groups | 处理 Treatments | 血浆尿素氮 PUN/(mmol/L) | 血清瓜氨酸 Serum citrulline/(pg/mL) | 血浆葡萄糖 PG/(mmol/L) | 血清胰岛素 Serum INS/(mU/L) |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | LN+0 g/d G | 8.11±0.27$^{a}$ | 401.20±2.02$^{d}$ | 2.39±0.12$^{b}$ | 20.61±0.01$^{f}$ |
| 2 | LN+20 g/d G | 7.09±0.56$^{d}$ | 406.79±3.66$^{cd}$ | 2.65±0.24$^{ab}$ | 26.34±0.09$^{a}$ |
| 3 | LN+40 g/d G | 7.30±0.67$^{cd}$ | 410.90±0.80$^{abc}$ | 3.23±0.30$^{a}$ | 22.94±0.90$^{e}$ |
| 4 | LN+NCG+0 g/d G | 7.97±0.56$^{b}$ | 401.27±5.12$^{d}$ | 2.56±0.18$^{ab}$ | 22.90±0.99$^{e}$ |
| 5 | LN+NCG+20 g/d G | 7.49±0.25$^{c}$ | 406.79±6.56$^{cd}$ | 2.82±0.35$^{ab}$ | 23.78±0.08$^{c}$ |
| 6 | LN+NCG+40 g/d G | 7.14±1.02$^{d}$ | 404.55±4.39$^{d}$ | 3.10±0.17$^{a}$ | 23.98±0.09$^{c}$ |
| 7 | HN+0 g/d G | 8.22±1.03$^{a}$ | 407.54±5.84$^{bcd}$ | 2.75±0.18$^{ab}$ | 23.21±1.29$^{de}$ |
| 8 | HN+20 g/d G | 8.12±0.86$^{a}$ | 414.25±5.19$^{a}$ | 2.85±0.25$^{ab}$ | 24.99±5.18$^{b}$ |
| 9 | HN+40 g/d G | 8.52±0.31$^{a}$ | 415.30±6.22$^{a}$ | 3.04±0.24$^{ab}$ | 23.31±2.28$^{d}$ |

同列数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著($P$＞0.05)，不同小写字母表示差异显著($P$＜0.05)，不同大写字母表示差异极显著($P$＞0.01)。下表同。

In the same column, values with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference ($P$＞0.05), while with different small letter superscripts mean significant difference ($P$＜0.05), and with different capital letter superscripts mean significant difference ($P$＞0.01). The same as below.

## 2.3 空肠和血清激素含量

由表 6 可知，基础饲粮条件下，与 7 组相比，1 组和 4 组空肠 GLP-1 和 GLP-2 的含量显著降低，即随饲粮氮水平升高空肠 GLP-1 和 GLP-2 含量降低（$P$<0.05）。就空肠 GIP 和 CCK 的含量而言，并未随着饲粮氮水平的变化而呈现一定的规律性。

山羊过瘤胃葡萄糖增加 20 和 40 g/d 时，2 组和 3 组的空肠 GLP-1 和 GLP-2 的含量都显著高于 1 组（$P$<0.05），而 5 组和 6 组 GLP-1 和 GLP-2 的含量也显著高于 4 组（$P$<0.05）。然而 3 组和 6 组结果却分别低于 2 组和 5 组。同样 CCK 和 GIP 的含量仍未随着葡萄糖灌注含量的变化而呈现一定的规律性。

表 6　饲粮营养水平对山羊空肠和血清激素含量的影响

Table 6　Effects of dietary nutrient level on hormone contents in jejunum and serum of goats

| 组别 Groups | 处理 Treatments | 空肠 Jejunum | | | | 血清 Serum | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 胰高血糖素样肽 1 GLP-1/(pg/mL) | 胰高血糖素样肽 2 GLP-2/(ng/mL) | 促胰岛素肽 GIP/(ng/L) | 胆囊收缩 CCK/(ng/L) | 胰高血糖素样肽 1 GLP-1/(pg/mL) | 胰高血糖素样肽 2 GLP-2/(ng/mL) | 促胰岛素肽 GIP/(ng/L) | 胆囊收缩 CCK/(ng/L) |
| 1 | LN+0 g/d G | 55.16±2.14$^{h}$ | 5.85±0.12$^{c}$ | 41.31±6.25$^{f}$ | 144.70±8.60$^{b}$ | 62.62±7.73$^{i}$ | 3.96±0.35$^{e}$ | 70.26±6.23$^{d}$ | 189.12±9.52$^{b}$ |
| 2 | LN+20 g/d G | 72.54±3.19$^{e}$ | 6.51±0.08$^{a}$ | 44.99±7.30$^{e}$ | 78.75±4.96$^{g}$ | 88.02±8.12$^{h}$ | 6.70±0.33$^{b}$ | 70.52±7.54$^{d}$ | 190.80±0.91$^{a}$ |
| 3 | LN+40 g/d G | 72.09±6.57$^{f}$ | 6.37±1.02$^{ab}$ | 34.32±6.78$^{g}$ | 110.61±5.27$^{d}$ | 102.28±9.82$^{b}$ | 5.92±0.52$^{c}$ | 69.69±0.83$^{de}$ | 157.38±3.81$^{e}$ |
| 4 | LN+NCG+0 g/d G | 71.57±9.03$^{g}$ | 5.39±0.84$^{e}$ | 33.97±3.56$^{h}$ | 172.07±2.91$^{a}$ | 91.70±8.12$^{g}$ | 5.88±0.73$^{c}$ | 83.47±6.73$^{a}$ | 130.12±5.32$^{g}$ |
| 5 | LN+NCG+20 g/d G | 78.28±8.24$^{d}$ | 6.74±0.75$^{ab}$ | 47.96±6.54$^{d}$ | 57.22±0.03$^{h}$ | 102.84±7.92$^{a}$ | 7.34±0.09$^{a}$ | 81.77±6.04$^{a}$ | 138.27±4.22$^{f}$ |
| 6 | LN+NCG+40 g/d G | 74.43±3.03$^{c}$ | 6.44±0.24$^{bc}$ | 28.55±3.68$^{h}$ | 86.83±5.02$^{f}$ | 95.32±5.92$^{e}$ | 4.93±0.74$^{d}$ | 67.94±3.54$^{e}$ | 168.82±10.51$^{c}$ |
| 7 | HN+0 g/d G | 80.56±1.73$^{c}$ | 6.71±0.83$^{ab}$ | 57.75±3.24$^{b}$ | 91.32±4.91$^{e}$ | 94.60±4.52$^{f}$ | 5.58±0.76$^{c}$ | 72.71±9.73$^{c}$ | 161.53±8.21$^{d}$ |
| 8 | HN+20 g/d G | 97.54±5.92$^{a}$ | 5.73±0.04$^{de}$ | 60.90±7.63$^{a}$ | 137.53±9.58$^{c}$ | 100.89±3.72$^{d}$ | 5.66±0.05$^{c}$ | 77.87±9.53$^{b}$ | 161.64±8.31$^{d}$ |
| 9 | HN+40 g/d G | 81.45±5.63$^{b}$ | 6.06±0.53$^{cd}$ | 56.53±3.14$^{c}$ | 146.05±6.27$^{b}$ | 101.62±9.52$^{c}$ | 5.73±0.83$^{c}$ | 56.62±8.74$^{f}$ | 157.71±11.01$^{e}$ |

# 3 讨　论

## 3.1 饲粮营养水平对绒山羊营养物质转运载体与肠道感应因子 mRNA 相对表达量的影响

T1R2/T1R3 这一异源二聚体用于感受肠道糖类和人工甜味剂的功能受体，可以检测肠道中可利用的葡萄糖，同样对于胃肠道中的 GLP-1、酪酪肽（PYY）的分泌也有促进作用。研究结果表明，在高葡萄糖情况下，作为的甜味受体 T1R2/T1R3 可促进肠上皮顶膜 *GLUT*2 的表达，从而提高葡萄糖的吸收能力，且位于小肠肠腔中的葡萄糖可以激活肠内分泌细胞（EEC）

的 T1R2 和 T1R3，同时引起 GLP-1 的释放[22]。EEC 激素通过上调 *SGLT*1 表达和促进肠上皮细胞顶端 *GLUT*2 表达从而影响葡萄糖吸收。因此，高碳水化合物饲粮和甜味剂能上调依赖于味蕾组织中的一种 G 蛋白（*Gg*）和 *T*1*R*1 的 *SGLT*1 的表达[23]。

本试验中，基础饲粮条件下，山羊十二指肠中灌注 20 和 40 g/d 葡萄糖时，山羊空肠和十二指肠中营养感应因子 *T*1*R*2 和 *T*1*R*3 mRNA 相对表达量整体呈增加的趋势。同时，葡萄糖转运载体 *SGLT*1 mRNA 相对表达量也相应有所提高，此结论与上述研究结果相似。但是，*GLUT*2 的变化却并没有呈现一定的规律性，与上述结果不同，该不一致性可能由于动物类别的不同所致。如相关研究称，在高葡萄糖饲粮条件下，大鼠肠道内顶膜上 *GLUT*2 表达量会增加，但迄今为止，同样的高糖饲粮条件下却没有引起山羊顶膜上 *GLUT*2 表达量的增加[24]。

在动物的饲粮中，摄入的蛋白质经胃蛋白酶和胰蛋白酶水解后，并非所有的蛋白质都要水解为游离的氨基酸才能被机体所利用，许多蛋白质的代谢物都能直接通过胃肠道黏膜进入体循环。然而，此过程的实现需要蛋白质及其分解产物的感应受体和转运载体的介导。碱性氨基酸转运载体是饲粮中的碱性氨基酸从肠腔进入肠细胞及循环系统的主要通路，通过调节肠道氨基酸转运载体的表达量从而为机体提供充足的氨基酸，此途径是避免肠道吸收障碍的有效方法之一。近年来，相关报道指出饲粮氮水平或蛋白质的水解产物如氨基酸类通过复杂代谢通路调节氨基酸载体转运[25-26]，这主要是说明蛋白质及其代谢产物激活了蛋白质和肽类感应器，从而使得 EEC 释放相关激素（CCK、GLP-1），最终刺激氨基酸转运载体活性从而促进小肠对氨基酸的吸收代谢。

T1R1/T1R3 是一种异二聚体膜受体，是哺乳动物体内蛋白质及其代谢物的感应受体，又因 T1R1/T1R3 能识别谷氨酸产生的“鲜味”，故又被称为“鲜味感应器”[12]。目前研究表明，该受体能够感应 20 种 *L*-氨基酸，但是不同物种体内的感受器对于氨基酸的种类是有特异性反应的。如鼠 T1R1/T1R3 对 20 种 *L*-氨基酸都有反应,但人 T1R1/T1R3 只选择性地对谷氨酸钠(MSG)和天冬氨酸（Asp）有反应。

NCG 是 N-乙酰谷氨酸（NAG）的类似物，可参与到动物体内尿素循环。研究表明，NCG 可以促进谷氨酰胺或脯氨酸合成瓜氨酸，进而促进精氨酸的合成[27]，NCG 因此也被称为精氨酸的内源激活剂。本试验在低氮饲粮中添加 NCG 来研究功能性氨基酸对肠道碱性氨基酸转运载体和营养感应因子表达的影响得到了较为满意结果。本试验中，基础饲粮水平下，在

LN+NCG 处理的山羊的十二指肠和空肠中营养感应因子 *T*1*R*1 和 *T*1*R*3 的 mRNA 相对表达量整体呈现高于 LN 处理的趋势。需要指出的是本试验只是就单一感应因子的 mRNA 相对表达量进行检测，而动物体内的鲜味感受器是以异源二聚体的形式才能发挥作用，此外，T1R3 不仅是鲜味感受器的成分之一，同样也是肠道中甜味受体（T1R2/T1R3）中成员之一，所以本试验结果只能初步判断 NCG 的添加对感应因子的表达量有一定的影响，倘若需要更加准确判定，则需结合其他手段（如免疫组化法）和其他指标（如小肠上皮内分泌细胞释放的相关激素）协助完成，本试验并未进行详细论断。本试验结果同样也显示，LN 和 LN+NCG 处理十二指肠和空肠中的碱性氨基酸转运载体 *SLC*7*A*1 和 *SLC*7*A*9 mRNA 相对表达量整体呈现高于 HN 处理的趋势，这主要是由于降低山羊饲粮氮水平可以促进山羊体内内源氮的合成[28]，而且与减少饲粮氮水平能促进山羊氮代谢的结果相吻合。而这 2 个处理中 LN+NCG 处理在十二指肠和空肠中 *SLC*7*A*1 和 *SLC*7*A*9 mRNA 相对表达量都高于 LN 处理，这主要是因为感应因子 *T*1*R*1 和 *T*1*R*3 mRNA 相对表达量增加所致，作为“鲜味感应器”的 T1R2/T1R3 可以通过氨基酸的刺激而激活，从而促使 EEC 释放 CCK 和 GLP-1 等相关激素，而将信号传导到氨基酸转运载体，从而使得氨基酸转运载体表达量也随之增加。

### 3.2 饲粮营养水平对绒山羊血液理化指标及空肠和血清激素含量的影响

本试验通过测定血浆葡萄糖和血清胰岛素的含量来粗略地推断饲喂不同氮水平、十二指肠葡萄糖不同灌注水平及 NCG 添加对山羊葡萄糖代谢的影响。反刍动物体内的血浆葡萄糖主要受肝脏糖异生的作用来调节，动物采食的饲粮对血浆葡萄糖含量的调节是属于次要的。本试验结果显示，十二指肠中灌注葡萄糖时，LN、LN+NCG 处理山羊血浆葡萄糖和血清胰岛素含量都呈低于 HN 处理的趋势，这可能主要是由于肝脏糖异生作用的减弱[29]。在低氮饲粮饲喂体系中，糖异生作用的减弱主要是基于非必需氨基酸的减少，如瓜氨酸[30]。本试验中，基础饲粮条件下，LN 和 LN+NCG 处理中的血清瓜氨酸含量呈现低于 HN 处理的趋势。此结果进一步说明上述推断是可能的。众所周知，瓜氨酸不仅与尿素合成途径有关，而且也参与机体的糖异生途径。大幅降低大鼠饲粮氮水平，其肝脏中瓜氨酸的合成量明显下降；同时，大鼠血液葡萄糖和胰岛素含量也呈相应的下降趋势[31-32]。此结论与人类食用严重缺乏蛋白质饮食时 Lariviere 等[33]的研究结果相一致。本试验中，分别在山羊十二指肠中灌注 0、20 和 40 g/d 的 3 个不同水平的葡萄糖，十二指肠灌注 20 和 40 g/d 葡萄糖时，2 组和 5 组血浆葡萄糖和血

清胰岛素含量整体呈现高于 8 组的趋势。推断得出，随着饲粮氮水平的降低，血浆中氨基酸的含量也随之减少，因而对绒山羊糖异生作用产生负面影响，而使得血浆葡萄糖含量下降，那么依赖葡萄糖的相关激素分泌也相应减少。而在低氮饲粮中添加 NCG 后可有效提高血浆氨基酸和相关激素的含量，进一步证实 NCG 可以促进机体非必需氨基酸的合成。

研究证实，甜味剂（葡萄糖、蔗糖和三氯蔗糖）以剂量依赖方式对肠道内分泌细胞株 NCI-716 GLP 释放有促进作用。同时肠道中 GLP-1 的释放依赖于 SGLT1 的参与[34]。在敲除 *T*1*R*3 基因大鼠的饲粮中添加甜味剂后，并没有引起 GLP-1 和 GIP 的分泌[23,35]。本试验结果显示，灌注 20 和 40 g/d 葡萄糖后 HN、LN 和 LN+NCG 处理中的血清 GLP-1 含量都较基础饲粮水平下升高，且 LN+NCG+20 g/d G 处理为最高。本试验结果与上述研究结果相一致，一方面可能是由于小肠葡萄糖中含量升高时，使得血浆葡萄糖含量上升，因而葡萄糖依赖性激素（GLP-1 和 GLP-2）也随之增加，而另一方面可能是由于该处理中山羊小肠中的 *SGLT*1 和 *T*1*R*3 mRNA 相对表达量最高所致。综合得出，低氮饲粮条件下，十二指肠中灌注葡萄糖可以缓解血浆葡萄糖含量的下降。然而，过量灌注葡萄糖后对机体依赖葡萄糖的相关激素的含量并未显著上升，这可能是由于机体并不能完全吸收过量的过瘤胃葡萄糖，但是适宜灌注葡萄糖可以改善低氮对机体代谢的影响。且增加适宜的过瘤胃葡萄糖后，添加 NCG 的对血浆葡萄糖、GLP-1、GLP-2 的影响更为明显。

蛋白质的代谢产物是 CCK 释放强烈的刺激因子，蛋白质对 CCK 刺激作用远比碳水化合物更为明显[36]。蛋白质代谢产物（如肽类和氨基酸）刺激胃肠道“鲜味感应器”后，引起味觉细胞内钙离子浓度的升高，导致 CCK、PYY 和 GLP 的释放，而这些胃肠激素可以激活迷走神经和相应的靶细胞[37]。然而，本文中的结果却并未与此结论相吻合，CCK 含量并未因饲粮氮水平、葡萄糖灌注水平的变化或 NCG 的添加而呈现一定的规律。该结果可能是由于 CCK 主要是在十二指肠分泌的，而本试验中所测定的是空肠组织中的含量，而关于该方面的研究目前尚未定论。

## 4 结 论

适当降低饲粮氮水平，补饲 NCG 和增加过瘤胃葡萄糖（十二指肠灌注 20 g/d）对绒山羊机体代谢及肠道营养物质感应均有促进作用。

参考文献：

[1] RAYBOULD H E.Gut chemosensing:interactions between gut endocrine cells and visceral afferents[J].Autonomic Neuroscience,2010,153(1/2):41–46.

[2] MCINTYRE N,HOLDSWORTH C D,LEEDS M B,et al.New interpretation of oral glucose tolerance[J].The Lancet,1964,284(7349):20–21.

[3] LAM C K L,CHARI M,LAM T K T.CNS regulation of glucose homeostasis[J].Physiology,2009,24(3):159–170.

[4] LIU Y,IPHARRAGUERRE I R,PETTIGREW J E.Digestive physiology of the pig symposium:potential applications of knowledge of gut chemosensing in pig production[J].Journal of Animal Science,2013,91(5):1982–1990.

[5] HUNTINGTON G B.Starch utilization by ruminants:from basics to the bunk[J].Journal of Animal Science,1997,75(3):852–867.

[6] HARMON D L,MCLEOD K R.Glucose uptake and regulation by intestinal tissues:implications and whole-body energetics[J].Journal of Animal Science,2001,79 (E-Suppl):E59-E72.

[7] KELLETT G L,BROT-LAROCHE E,MACE O J,et al.Sugar absorption in the intestine:the role of GLUT2[J].Annual Review of Nutrition,2008,28(1):35–54.

[8] WU S V,ROZENGURT N,YANG M, et al.Expression of bitter taste receptors of the T2R family in the gastrointestinal tract and enteroendocrine STC-1 cells[J].Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,2002,99(4):2392–2397.

[9] ROZENGURT E,STERNINI C.Taste receptor signaling in the mammalian gut[J].Current Opinion in Pharmacology,2007,7(6):557–562.

[10] YOUNG R L.Sensing via intestinal sweet taste pathways[J].Frontiers in Neuroscience,2011,5:23.

[11] BURANT C F,TAKEDA J,BROT-LAROCHE E,et al.Fructose transporter in human spermatozoa and small intestine is GLUT5[J].The Journal of Biological Chemistry,1992,267(21):14523–14526.

[12] ZHAO G Q,ZHANG Y F,HOON M A,et al.The receptors for mammalian sweet and umami

taste[J].Cell,2003,115(3):255–266.

[13] 赵宏丽.精氨酸对细毛羊肠道蛋白质合成、氨基酸转运蛋白 mRNA 表达及肠道健康的影响[D].硕士学位论文.呼和浩特:内蒙古农业大学,2012.

[14] 李金霞.精氨酸及大豆油对细毛羊骨骼肌蛋白质合成和肌内脂肪含量变化的影响[D].硕士学位论文.呼和浩特:内蒙古农业大学,2011.

[15] 孙海洲.生长肥育羊葡萄糖营养整体优化规律的研究[D].博士学位论文.呼和浩特:内蒙古农业大学,1999.

[16] 韩飞.反刍动物常用饲料丙酸产量和吸收率的测定及其模型的研究[D].硕士学位论文.呼和浩特:内蒙古农业大学,2001.

[17] 任莹.反刍动物常用饲料过瘤胃淀粉量及其小肠消化率测定及相关技术的研究[D].硕士学位论文.南宁:广西大学,2001.

[18] 王玲.内蒙古白绒山羊适宜代谢葡萄糖水平的评定[D].硕士学位论文.呼和浩特:内蒙古农业大学,2003.

[19] NRC.Nutrient requirements of dairy cattle[S].7th ed.Washington,D.C.:National Academy of Sciences,2001.

[20] ALDERMAN J.Energy and protein requirements of ruminants:an advisory manual prepared by the AFRC technical committee on responses to nutrients[M].Wallingford:CABI Publishing,1993.

[21] 李玫.美国 Feedstuffs 饲料成分分析表(2007 版)[J].饲料广角,2007(12):37–40.

[22] KOKRASHVILI Z,RODRIGUEZ D,YEVSHAYEVA V,et al.Release of endogenous opioids from duodenal enteroendocrine cells requires Trpm5[J].Gastroenterology,2009,137(2):598–606.e2.

[23] MARGOLSKEE R F,DYER J,KOKRASHVILI Z,et al.T1R3 and gustducin in gut sense sugars to regulate expression of $Na^+$-glucose cotransporter 1[J].Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,2007,104(38):15075–15080.

[24] KELLETT G L.The facilitated component of intestinal glucose absorption[J].The Journal of Physiology,2001,531(3):585–595.

[25] KARASOV W H,SOLBERG D H,CHANG S D, et al.Is intestinal transport of sugars and amino acids subject to critical-period programming?[J].American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology,1985,249(6):G770–G785.

[26] KARASOV W H,SOLBERG D H,DIAMOND J M.Dependence of intestinal amino acid uptake on dietary protein or amino acid levels[J].American Journal of Physiology:Gastrointestinal and Liver Physiology,1987,252(5):G614–G625.

[27] WU G Y,KNABE D A,KIM S W.Arginine nutrition in neonatal pigs[J].The Journal of Nutrition,2004,134(10S):2783S–2390S.

[28] COLMENERO J J O,BRODERICK G A.Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows[J].Journal of Dairy Science,2006,89(5):1704–1712.

[29] MUSCHER-BANSE A S,PIECHOTTA M,SCHRÖDER B,et al.Modulation of intestinal glucose transport in response to reduced nitrogen supply in young goats[J].Journal of Animal Science,2013,90(13):4995–5004.

[30] MARKANTONATOS X,GREEN M H,VARGA G A.Use of compartmental analysis to study ruminal volatile fatty acid metabolism under steady state conditions in Holstein heifers[J].Animal Feed Science and Technology,2008,143(1/2/3/4):70–88.

[31] KORITZ S B,COHEN P P.The effect of diet on citrulline synthesis *in vitro*[J].The Journal of Biological Chemistry,1953,200(2):551–557.

[32] MCGIVAN J D,BRADFORD N M,MENDES-MOURÃO J.The regulation of carbamoyl phosphate synthase activity in rat liver mitochondria[J].Biochemical Journal,1976,154(2):415–421.

[33] LARIVIÈRE F,CHIASSON J L,SCHIFFRIN A,et al.Effects of dietary protein restriction on glucose and insulin metabolism in normal and diabetic humans[J].Metabolism,1994,43(4):462–467.

[34] MACE O J,AFFLECK J,PATEL N,et al.Sweet taste receptors in rat small intestine stimulate glucose absorption through apical GLUT2[J].The Journal of Physiology,2007,582(1):379–

392.

[35] JANG H J,KOKRASHVILI Z,THEODORAKIS M J,et al.Gut-expressed gustducin and taste receptors regulate secretion of glucagon-like peptide-1[J].Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,2007,104(38):15069–15074.

[36] 谭碧娥,印遇龙.胃肠营养化学感应及其生理效应[J].动物营养学报,2013,25(2):231–241.

[37] SUTHERLAND K,YOUNG R L,COOPER N J,et al.Phenotypic characterization of taste cells of the mouse small intestine[J].American Journal of Physiology:Gastrointestinal and Liver Physiology,2007,292(5):G1420–G1428.

## Effects of Dietary Nutrient Level on mRNA Relative Expression Levels of Nutrient Sensing Factors, Blood Physiochemical Indexes and Hormone Contents of Cashmere Goats

ZHANG Xia[1,2] SUN Haizhou[2*] SANG Dan[2] ZHAO Cunfa[2] LI Shengli[2] YAN Chen[2] LING Shuli[2] SHAN Dan[2] REN Xiaoping[2]

（1. *Inner Mongolia Fuyuan Farming Co., Ltd., Hohhot* 010070, *China*; 2. *Institute of Animal Nutrition and Feed, Inner Mongolia Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Hohhot* 010031, *China*)

Abstract: To study the effects of N-carbamylglutamic acid （NCG） supplementation and intestinal infusion of glucose on mRNA relative expression levels of nutrient sensing factors, blood physiochemical indexes and hormone contents of cashmere goats under the condition of decreasing dietary nitrogen level. Twenty seven healthy Inner Mongolia cashmere wethers with permanent rumen fistula and duodenal cannulas were used. In accordance with the principle of similar age and body weight, twenty seven goats were divided into nine groups with three goats per group. There were 3 dietary treatments, which were low nitrogen [crude protein (CP) 10.5%], low nitrogen +NCG (0.20 g/d) and high nitrogen (CP 13.5%); meanwhile, goats in each treatment were infused glucose at 3 levels, which were 0, 20 and 40g/d. After feeding experiment (15 d of pre-experiment and 15 d of formal experiment), goats were slaughtered to collect jejunum and duodenum tissues, the mRNA relative expression levels of intestinal nutrient sensing factor were

*Corresponding author, professor, E-mail: sunhaizhou@china.com （责任编辑　王智航）

determined by real-time PCR method, and blood physiochemical indexes, and serum and jejunal hormone contents were determined. The results showed as follows: 1) under the condition of basal diet (without glucose infusion), with the decrease of dietary nitrogen level, the mRNA relative expression level of sodium-glucose cotransporter 1 (*SGLT*1) in jejunum and duodenum, plasma urea nitrogen (UN) and glucose contents, serum citrulline and insulin contents, and serum and jejunal contents of glucagon-likepeptide 1 (GLP-1), glucagon-likepeptide 2 (GLP-2) and glucose insulinotropic peptide (GIP) were declined, but the mRNA relative expression levels of solute carrier family 7 member 9 (*SLC*7*A*9) and solute carrier family 7 member 1 (*SLC*7*A*1) were increased. 2) After increase proper amount glucose, with the decease of dietary nitrogen level, the mRNA relative expression levels of *SGLT*1, taste 1 receptor member 1 (*T*1*R*1), taste 1 receptor member 2 (*T*1*R*2) and taste 1 receptor member 3 (*T*1*R*3) tended to be increased. 3) Under the condition of low dietary nitrogen level and 20 g/d glucose infusion, extra supplementation of NCG could help relieve the decrease of the mRNA relative expression level of *SGLT*1 in jejunum and duodenum, plasma UN and glucose contents, serum citrulline content, and serum and jejunal contents of GLP-1, GLP-2 and GIP induced by the decreasing dietary nitrogen level. The results indicate that under the condition of decreasing dietary nitrogen level at proper extent, NCG supplementation and increasing rumen-passed glucose (duodenal infusion 20 g/d glucose) can improve metabolism and nutrient sensing of cashmere goats.

Key words: goat; intestinal nutrient sensing factor; glucose; N-carbamylglutamic acid